

Kronik hepatit b tedavisinde HBsAg ve M30 antijen titre takibinin klinik yararı

Clinical utility of HBsAg and M30 antigen titer follow-up in chronic hepatitis B treatment

Zeynep Dünder Ök, Mustafa Çelik, İsmail Hakkı Akbudak, Yüksel Gülerüzlü, Halil Yılmaz, Mustafa Yılmaz

Gönderilme tarihi:18.11.2020

Kabul tarihi:18.01.2021

Öz

Amaç: Antiviral tedavi öncesi ve sonrası serum HBsAg ve cccDNA düzeyleri ve bu değerlerdeki düşüş oranları arasında pozitif ilişki olduğu bilinmektedir. Serolojik HbsAg seviyesi de cccDNA ile ilişkilendirilmiştir ve serolojik HbsAg, enfekte olmuş hücreleri teşhis etmek için cccDNA'nın yerini alan bir biyobelirteç olarak kabul edilmiştir. M30 antijeni, apoptoz sırasında kaspaz proteinleri tarafından parçalanarak CK 18 seviyelerini tespit etmek için kullanılır. Ayrıca KHB hastalığında, apoptoz belirteci olan M30 antijen düzeyleri ile karaciğer hasarı arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada KHB enfeksiyonu'nun şiddeti ve nucleoz (t)ide analogu (NA) tedavisine klinik yanıtının değerlendirilmesinde HbsAg ve M30 antijen titre takibinin yararını saptamayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya KHB enfeksiyonuna yönelik oral antiviral tedavi verilen 60 hasta dahil edildi. Tüm hastalarda tedavi başlangıcında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HAİ, fibrozis ile HbsAg ve M30 antijen düzeyleri arasındaki korelasyon değerlendirildi. Tedavi başlangıcı ve tedavinin 6. ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeyleri karşılaştırıldı. Tedavi ile bu değerlerde saptanan düşüş oranları değerlendirildi. Ayrıca hastalar aldıkları tedaviye göre Lamivudin ve Tenofovir alanlar olarak iki gruba ayrıldı. İki grup tedavi ile AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları açısından karşılaştırıldı. HbsAg ve M30 antijen seviyelerinin tedavi sonrası azalma oranı açısından iki grup da karşılaştırıldı.

Bulgular: Tedavi başlangıcında saptanan AST, ALT, HBVDNA düzeyleri ile HbsAg ve M30 antijen arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,001$). HAİ, Fibrozis dereceleri ile HbsAg arasında anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$), HAİ, Fibrozis dereceleri ile M30 antijen düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,01$). Tedavi verilen tüm hastalarda tedavinin 6. ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeylerinde, tedavi başlangıcına göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0,001$). Lamivudin ve Tenofovir grupları arasında HBVDNA düzeylerindeki düşüş oranları açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte tedavi ile HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları tenofovir grubunda lamivudin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek saptandı ($p<0,001$).

Sonuç: HbsAg ve M30 antijen düzeyi ölçümü KHB enfeksiyonu'nun şiddetinin ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılabilir. Tenofovir ile HbsAg ve M30 antijen düzeylerinde düşüşün lamivudin grubuna göre daha belirgin olması, bize KHB enfeksiyonunun en etkin ilaç seçeneği ile tedavisinin hücre ölümü-apoptozisin önüne geçilmesinde etkili olacağını gösterdi. Bu sebeple sadece ALT ve HBVDNA sonuçlarının takibine göre düşük direç bariyeri olan oral antivirallerin kullanımında ısrar edilmesinin yanlış olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Hepatit B enfeksiyonu, M30 antijen, HBsAg, nükleoz(t)id analogları, oral antiviral tedavi.

Dünder Ök Z, Çelik Ç, Akbudak İH, Gülerüzlü Y, Yılmaz H, Yılmaz M. Kronik hepatit b tedavisinde HBsAg ve M30 antijen titre takibinin klinik yararı. Pam Tıp Derg 2021;14:380-387.

Abstract

Purpose: Positive correlation has been detected between pretreatment and posttreatment serologic levels and amount of decrease of HbsAg and cccDNA. Serologic HbsAg level has also been correlated with cccDNA, and serologic HbsAg has been accepted to be a biomarker replacing cccDNA to diagnose infected cells. M30 antigen is used to detect CK 18 levels that are disintegrated by caspase proteins during apoptosis. As an indicator of apoptosis, M30 levels show liver injury in chronic Hepatitis B infection. In this study, we aimed to evaluate clinical efficacy of measurement of HbsAg and M30 titrated antigen levels for response to treatment of chronic Hepatitis B infection during follow-up.

Zeynep Dünder Ök, Uzm. Dr. Devizli Serverdazi Devlet Hastanesi, Dahiliye Polikliniği, Denizli, Türkiye, e-posta: zynpdunder@gmail.com (https://orcid.org/0000-0003-0925-2098) (Sorumlu Yazar)

Mustafa Çelik, Doç. Dr. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: mustafa.dr29@hotmail.com (https://orcid.org/0000-0001-8175-2324)

İsmail Hakkı Akbudak, Dr. Öğr. Üye. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Yoğun Bakım Bilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: ishakbudak@gmail.com (https://orcid.org/0000-0002-3716-9243)

Yüksel Gülerüzlü, Uzm. Dr. Kartal Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları/Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye, e-posta: yukselguleryuzlu@hotmail.com (https://orcid.org/0000-0002-2522-1550)

Halil Yılmaz, Arş. Gör. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: drhalil48@gmail.com (https://orcid.org/0000-0002-3191-2171)

Mustafa Yılmaz, Prof. Dr. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye, e-posta: kmustuyil@yahoo.com (https://orcid.org/0000-0003-4541-172X)

Materials and methods: Sixty patients receiving oral antiviral therapy for chronic Hepatitis B infection were included in the study. Correlation in between before treatment antigen levels of AST, ALT, HBVDNA, HAI, fibrosis with HbsAg and M30 were evaluated in all patients. Before treatment and at sixth of month of treatment antigen level results of AST, ALT, HBVDNA, HbsAg and M30 were compared. Detected decrement levels following treatment were evaluated. In addition, patients were grouped in two according to medicine received by the patients as Lamivudin and Tenofovir. Two groups were compared concerning age, sex, pretreatment antigen levels of AST, ALT, HBVDNA, HAI, Fibrosis, HbsAg and M30. Two groups were also compared concerning posttreatment decrement ratio of antigen levels of HbsAg and M30.

Results: Positive correlation was detected between levels of AST, ALT, HBVDNA and HbsAg and M30 antigens at pretreatment period measurements ($p<0.001$). While no significant correlation was detected between HAI, degree of Fibrosis and HbsAg ($p>0.05$), positive correlation was detected between HAI, degree of Fibrosis and m30 antigen levels ($p<0.01$). Statistically significant decrements of antigen levels of AST, ALT, HBVDNA, HbsAg and m30 were detected at posttreatment sixth month compared to pretreatment levels in all treated patients ($p<0.001$). There was no statistically significant difference between Lamivudin ve Tenofovir groups concerning decrement ratio of HBVDNA levels ($p>0.05$). However, the amount of decrease in antigen levels of HbsAg and m30 was statistically significantly more in Tenofovir group than Lamivudin group ($p<0.001$).

Conclusion: Antigen level measurements of HbsAg and M30 can be used to detect severity of chronic hepatitis B infection and to evaluate effectiveness of the treatment. Significant decrease of HbsAg and M30 antigen levels in Tenofovir group in contrast to Lamivudin group showed us that treatment of chronic Hepatitis B infection with the most potent medicine can be effective to avoid cell death-apoptosis. For this reason, we propose that insisting on usage of oral antivirals with low resistance barrier just by observing ALT and HBVDNA results is inadvisable.

Key words: Hepatitis B infection, M30 antigen, HbsAg, oral antiviral treatment.

Dundar Ok Z, Celik C, Akbudak IH, Guleryuzlu Y, Yilmaz H, Yilmaz M. Clinical utility of HBsAg and M30 antigen titer follow-up in chronic hepatitis B treatment. Pam Med J 2021;14:380-387.

Giriş

Her yıl yaklaşık 1 milyon kişi HBV ile ilgili komplikasyonlardan (dekompanse siroz veya hepatosellüler kanser) kaybedilmektedir [1, 2]. Kronik Hepatit B (KHB) enfeksiyonu tedavisinden beklenen en optimal sonuç, tedavinin güvenle kesilebileceği tek durum olan HbsAg kaybıdır, ancak bu hedefe çok nadir ulaşılabilmektedir [3, 4].

Kovalent kapalı sirküler DNA (cccDNA) viral persistansın önemli bir göstergesidir ve antiviral tedavi sonrası cccDNA düzeylerinde azalmanın kalıcı virolojik yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [5, 6]. Serum HbsAg düzeyi cccDNA ile ilişkilidir ve enfekte hücrelerin tespitinde cccDNA'nın yerine kullanılabilecek bir markır olarak kabul edilmektedir [7, 8]. HBeAg negatif KHB ve Delta ajanlı KHB enfeksiyonu'nun interferon ve oral antiviral tedaviye yanıtının monitörizasyonunda HbsAg titre ölçümünün faydalı olabileceği bildirilmiştir [9, 10].

Tüm hepatit türlerinde inflamatuvar olay nekroz ve apoptozu içeren farklı mekanizmalar ile hepatosit ölümüne sebep olur [11-13]. KHB enfeksiyonu hepatik nekroinflamasyon yolu ile progresif karaciğer hastalığına sebep olabilen önemli bir faktördür [14-16]. Apoptoz belirteci olan M30 antijen düzeylerinin kronik hepatit C

hastalığında fibrotik karaciğer hasarı ile ilişkisi gösterilmiştir [17]. Ayrıca serum M30 antijen seviyesinin KHB enfeksiyonunda apoptotik aktiviteyi gösterdiği rapor edilmiştir [18].

Günümüzde KHB tedavisinde direnç bariyeri yüksek ve düşük NA kullanılmaktadır ve tedavi takibi alanin aminotransferaz (ALT) ve HBVDNA düzeyleri ölçülerek yapılmaktadır. Ancak bunların takipteki yeterliliği tartışmalıdır. Örneğin serum ALT düzeyleri genellikle klinik rutinde karaciğer inflamasyonunda belirteç olarak kullanılır, ancak apoptoz ile gerçekleşen hücre ölümünde ALT düzeylerinin yeterli bilgi vermediği gösterilmiştir [15].

Bu çalışmada, KHB enfeksiyonunun şiddetinin ve NA ile tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesinde, HbsAg ve M30 antijen titre ölçümünün klinik yararını göstermeyi amaçladık. HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki değişimin, tedavi yanıtının değerlendirilmesi ve hastalığa en uygun tedavinin seçimi konusunda faydalı bilgiler sağlayabileceğini düşünüyoruz.

Gereç ve yöntem

Çalışmaya Hepatoloji polikliniğine başvuran ve AntiHbe (+) KHB enfeksiyonu ön tanısı ile karaciğer biyopsisi yapılan, sonrasında oral antiviral tedavi (Tenofovir veya Lamivudin)

başlanması planlanan hastalar dahil edildi. Çalışmaya alınmadan önce tedavi kararı verilmiş olan, 32 lamivudin ve 31 tenofovir tedavisi planlanan toplam 63 hasta değerlendirmeye alındı. AntiHbe (+) KHB hastaları American Association for the Study of Liver Diseases tarafından yayınlanan guideline kullanılarak tanımlandı [19]. Hepatit C, delta hepatiti veya HIV koenfeksiyonu olan hastalar, alkol kullanımı (>40 gr/gün) olan hastalar, bilinen malignite öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastaların tedavi öncesi yapılan tetkiklerinde saptanan aspartat aminotransferaz (AST), (ALT), HBV DNA düzeyleri, ayrıca tedavi öncesi karaciğer biyopsisinde saptanan hepatik aktivite indeksi (HAİ) ve fibrozis düzeyleri kaydedildi.

Hastalar takibe alındı ve tedavinin altıncı ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA düzeyleri kaydedildi. Tüm hastalardan tedavi başlangıcı ve tedavinin altıncı ayında kan alındı ve hastalardan alınan serum örnekleri santrifüj edildikten sonra -70 derecede saklandı. Çalışma sonunda alınan serum örneklerinden HbsAg ve M30 antijen düzeyleri çalışıldı.

Tüm hastalarda tedavi başlangıcında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HAİ, fibrozis ile HbsAg ve M30 antijen düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkisi değerlendirildi. Daha sonra hastaların tedavi başlangıcı ve tedavinin 6. ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeyleri karşılaştırıldı. Tedavi ile bu değerlerde saptanan düşüş oranları değerlendirildi.

Ayrıca hastalar aldıkları tedaviye göre Lamivudin ve Tenofovir alanlar olarak iki gruba ayrıldı. İki grup tedavi öncesi ve sonrası saptanan AST, ALT, HBVDNA HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları açısından karşılaştırıldı.

Çalışma prospektif olarak yapıldı ve her hastadan bilgilendirilmiş onam formları alındı. Çalışma protokolü, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Komitesi tarafından onaylandı

Kantitatif serum HbsAg düzeyi ölçümü

Serum HbsAg ölçümü için tüm örneklerden 10 ml venöz kan alındı. Biyokimya tüplerine alınan kanlar hızla laboratuvara gönderildi. Ardından 5000 devir hızında 3 dakika santrifüj

edildi ve serumları 2-3 kısım halinde eppendorf tüplerine ayrıldı. Örnekler analiz gününe kadar -70 derecede derin dondurucuda saklandı. Tüm örnekler tek seferde çalışıldı.

HbsAg (Dia.Pro, İtalya) ile yapılan çalışmada öncelikle toplanan bütün örnekler ve kit oda sıcaklığına getirildi. Kullanılan ELISA yöntemi, "fourth generation enzyme immunoassay" prensibine dayanmaktadır. Çalışmada kitin standart ve kimyasalları hazırlandıktan sonra plakta bulunan kuyucuklara standart ve örnekler konuldu ve 100 µl. enzim konjugat eklendi. Ardından 2 saat 37°C'de inkübasyon sağlandı. Konjugatın eklenmesinden sonra bütün plaklar wash buffer ile 4-5 kez yıkandı. Bütün plaklara, 200 µl. kromojen substrat eklendi. 30 dakika 18-24°C'de inkübasyon sağlandı. 100 µl. sülfirik asit her bir kuyucuğa eklenerek örneklerin renklenmesi sağlandı. Renk oluşumu gözlemlendikten sonra 450 nanometrede (nm.) Kayto RT-2100c Microplate reader ELISA cihazı ile kuyucukların absorbans değerleri okundu ve sonuçların çıktısı alındı. Bulunan serum absorbans değerleri kullanılarak konsantrasyonlar hesaplandı. Bulunan değerler HbsAg için IU/L şeklindedir.

Serum M30 antijen düzeyi ölçümü

Serum M30 antijen düzeyleri Human Cytokeratin 18-M30 (AP-M30 Bioassay Technology Laboratory) kiti kullanılarak enzim bağlı immunosorbent deneyi (ELISA) yöntemi ile ölçüldü. M30 antijen titreleri 5 IU/L-900 IU/L ölçüm aralığında verildi.

AP-M30 için spesifik antikorlar plakalara yerleştirildi. Kitin standart ve kimyasalları hazırlandıktan sonra plakta bulunan kuyucuklara standart ve örnekler konuldu. Mevcut AP-M30 ile antikorlar bağlandı. Kalan bağlanmamış örnekler çıkarıldıktan sonra AP-M30 için spesifik biyotin ile konjuge edilmiş antikor eklendi. Yıkamadan sonra horseradish peroxidase ile konjuge edilmiş streptovisin (HRP) eklendi. Antikor bağlı AP-M30 miktarı ile orantılı olarak renk değişimi gözlemlendi. Renk değişimi gözlemlendikten sonra renk yoğunluğu ölçüldü.

İstatistiksel analiz

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak

verildi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıklarına karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bağımlı grup karşılaştırmalarında, parametrik test varsayımları sağlandığında İki eş arasındaki farkın önemlilik testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. Sürekli değişkenler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. $<0,05$ 'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuç olarak çalışmaya dahil edilen 63 hastadan lamivudin grubundan 2, tenofovir

grubundan 1 olmak üzere toplam 3 hasta takibe gelmedikleri için çalışmadan çıkarıldı ve çalışma 60 hasta ile tamamlandı. Hastaların 34'ü kadın (%56,7) ve 26'sı erkek (%43,3) olup yaş ortalaması $46\pm 10,7$ (yıl) idi.

Öncelikle çalışmaya alınan tüm hastalarda, tedavi başlangıcında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HAİ, fibrozis düzeyleri ile HbsAg ve M30 antijen düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkisi değerlendirildi. Tedavi başlangıcında saptanan AST, ALT, HBVDNA düzeyleri ile HbsAg ve M30 antijen arasında pozitif korelasyon saptandı. HAİ, Fibrozis dereceleri ile HbsAg arasında anlamlı ilişki saptanmazken, HAİ, Fibrozis dereceleri ile M30 antijen düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. Tüm hastalarda tedavi öncesi saptanan HbsAg ve M30 antijen düzeyleri ile AST, ALT, HBVDNA, HAİ, fibrozis düzeyleri arasındaki korelasyon analizi

	HbsAg (IU/L)	M30 (IU/L)
AST (IU/ml)	$p<0,0001$, $r:0,533$	$p<0,0001$, $r:0,590$
ALT (IU/ml)	$p<0,0001$, $r:0,503$	$p<0,0001$, $r:0,491$
HBVDNA (kopya/ml)	$p<0,0001$, $r:0,831$	$p<0,0001$, $r:0,522$
HAİ	$p>0,05$, $r:0,174$	$p<0,0001$, $r:0,534$
Fibrozis	$p>0,05$, $r:0,135$	$p<0,01$, $r:0,374$
HbsAg (IU/L)		$p<0,01$, $r:0,411$

Sonrasında tedavi verilen tüm hastalarda tedavinin başlangıcında ve tedavinin 6. ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş karşılaştırıldı.

Tedavi verilen tüm hastalarda değerlendirilen tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü (Tablo 2).

Tablo 2. Tüm hastalarda tedavi başlangıcı ve tedavinin 6. ayında saptanan AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 düzeylerinin karşılaştırılması

	0.ay Ortalama \pm std sapma	6.ay Ortalama \pm std sapma	p value
AST (IU/ml)	46,47 \pm 42,05	24,43 \pm 7,86	$p<0,0001$
ALT (IU/ml)	57,47 \pm 73,28	27,65 \pm 17,99	$p<0,0001$
HBVDNA (Kopya/ml)	12607824,03 \pm 27434892,28	767,07 \pm 1607,81	$p<0,0001$
HbsAg (IU/L)	14855,9 \pm 3226,47	11762,55 \pm 2709,78	$p<0,0001$
M30 antijen (IU/L)	325,495 \pm 69,704	261,507 \pm 40,243	$p<0,0001$

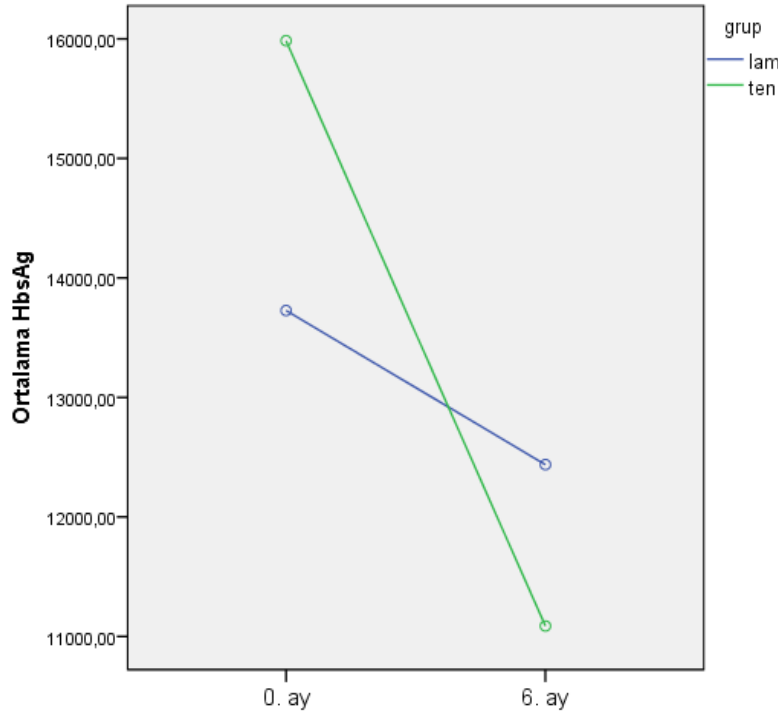
Hastalar lamivudin ve tenofovir tedavisi alanlar olarak iki gruba ayrıldı. Lamivudin ve Tenofovir grupları, tedavi sonunda AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları açısından karşılaştırıldı ve iki grup arasında HBVDNA düzeylerindeki düşüş oranları açısından anlamlı fark saptanmadı. Bununla birlikte tedavi ile AST, ALT, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları tenofovir grubunda lamivudin grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek saptandı (Tablo 3).

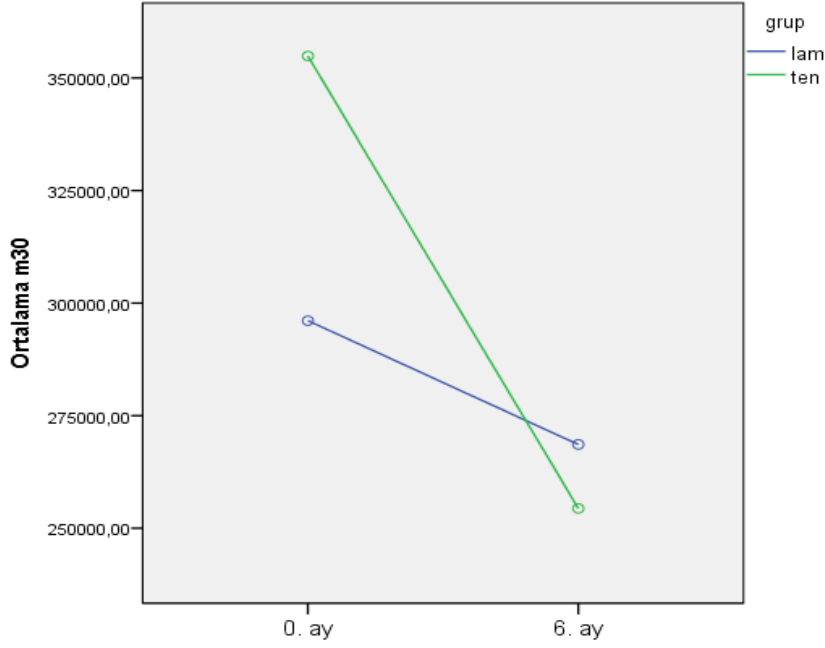
Lamivudin ve tenofovir gruplarında tedavi başlangıcı ve tedavinin 6. ayında HbsAg ve M30 antijen düzeylerinin düşüş eğrileri incelendiğinde tenofovir grubunda lamivudin grubuna göre her iki parametredeki düşüşünde istatistiksel olarak daha belirgin olduğu görüldü (Şekil 1, 2).

Tablo 3. Lamivudin ve tenofovir gruplarının, tedavi ile AST, ALT, HBVDNA, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş oranları açısından karşılaştırılması

	Lamivudin grubu (ortalama ± std sapma)	Tenofovir grubu (ortalama ± std sapma)	p değeri
AST (IU/ml)	0,18±46,78	-41,14±37,74	p<0,001
ALT (IU/ml)	3,35±67,41	-33,55±48,49	p<0,05
HBVDNA (Kopya/ml)	-98,23±6,96	-99,37±3,25	p>0,05
HbsAg (IU/L)	-9,49±5,8	-30,62±5,58	p<0,001
M30 antijen (IU/L)	-9,16±4,71	-27,04±8,26	p<0,001



Şekil 1. Lamivudin ve tenofovir gruplarında tedavi ile HbsAg düzeylerinin düşüş eğrilerinin karşılaştırılması



Şekil 2. Lamivudin ve tenofovir gruplarında tedavi ile M30 antijen düzeylerinin düşüş eğrilerinin karşılaştırılması

Tartışma

Biz bu çalışmada kronik aktif hepatit B enfeksiyonunun şiddetinin tayini, ayrıca bu grupta oral antiviral ilaçların etkinliği ve tedavi takibinde HbsAg ve M30 antijen düzeylerinin faydalı birer marker olarak kullanılabilirliğini göstermeyi amaçladık.

Kronik hepatit C, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, KHB ve ilaca bağlı karaciğer hasarı ile ilgili çalışmalar, daha önce M30 antijen gibi hepatosit biyobelirteçlerinin hastalık şiddetini yansıtmaya, etiyolojileri ayırt etme ve prognoz bilgisi sağlama kabiliyetini bildirmiştir [17, 18, 20, 21]. Kronik hepatit C'li hastalarda, M30 antijen düzeyleri ve fibrozis arasındaki ilişki defalarca bildirilmiştir [15, 22]. Cao ve ark.'nın [23] yapmış olduğu çalışmada ise kronik hepatit C enfeksiyonunda M30-CK18 serum konsantrasyonunun transaminaz aktivitesinin yanı sıra inflamatuvar aktivite ve karaciğer fibrozisi ile anlamlı ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir. Parfieniuk Kowarda ve ark.'nın [24] yaptığı çalışmada HBV-DNA ve M30 antijen düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda aktif KHB enfeksiyonunda karaciğer biyopsisinde HAİ ve fibrozis ile M30 antijen düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu gösterdik. Bu hasta grubunda M30 antijen düzeyi ile AST ve ALT

arasında da anlamlı düzeyde pozitif korelasyon olduğunu saptadık. Bu bize özellikle antihbe pozitif aktif KHB enfeksiyonu gibi seçilmiş bir hasta grubunda M30 antijen düzeyi ölçümünün karaciğer hasarını öngörmeye oldukça faydalı olabileceğini düşündürdü. Bu sebeple M30 antijen düzeyinin KHB enfeksiyonunun aktivitesinin tayininde oldukça faydalı bir marker olabileceğini düşünüyoruz.

Günümüzde KHB tedavisinde lamivudin, telbivudin, adefovir gibi düşük direnç bariyeri olan oral antivirallerin yanında, tenofovir ve entekavir gibi yüksek direnç bariyerine sahip oral antiviraller kullanılmaktadır. NA tedavisinin amacı tedavi boyunca viral supresyonun sağlanmasıdır [25]. NA tedavisi ile HBV replikasyonunun uzun süreli supresyonunun karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma gelişme riskini azalttığı bilinmektedir [26, 27]. Bu sebeple bu hastaların tedavisinde mümkün olan en etkin seçeneğin kullanılması gerekmektedir. NA ile antiviral tedavi sırasında HBV kalıcılığının önemli bir mekanizması, enfekte hücrelerde cccDNA'nın kalıcılığıdır [8, 28]. Son çalışmalar antiviral tedavi öncesi ve sonrası HbsAg düzeyi ve cccDNA arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermiştir [29, 30]. Bizim çalışmamızda da tedavi öncesi HbsAg ve HBVDNA düzeyleri arasında pozitif

korelasyon saptadık. Ayrıca tedavi ile HbsAg ve HBVDNA düzeylerinde birbirine paralel, istatistiksel olarak belirgin düzeyde anlamlı düşüş saptadık. Bu bize bu hasta grubunda HbsAg düzeyi ölçümünün tedavi takibinde faydalı bir parametre olarak kullanılabileceğini düşündürdü.

İnflamatuvar olaylar apoptoz ve nekroz olmak üzere bir çok mekanizma ile hepatosit ölümüne neden olur. KHB hastalarında antiviral tedavinin en önemli hedefi nekroinflamatuvar aktivitenin azalmasıdır ve NA tedavisi kronik hepatit B'li hastalarda apoptotik aktiviteyi azaltır. Ayrıca NA tedavisi ile M30 antijen ve ALT düzeylerinin birlikte azaldığı gösterilmiştir [31]. M30 antijeni, anti-viral tedaviyi takiben değiştirilebilir. Bu, hem M30 antijeninin HBV-DNA'daki düşüşle eşzamanlı olarak azaldığını gösteren diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla desteklenmektedir [31- 33]. Çalışmamızda NA tedavisi ile M30 antijen, AST, ALT HBVDNA düzeylerinde birbirine paralel olarak istatistiksel açıdan yüksek düzeyde anlamlı düşüş olduğunu gösterdik. Apoptozis markerı olan M30 ile nekrozun göstergesi olarak kabul edilen ALT düzeylerinin tedavi ile anlamlı düzeyde düşmesi ve HBVDNA da buna paralel düşüş olması bize M30 antijen düzeylerinin tedavi takibinde kullanılabileceğini düşündürdü. Bu sebeple M30 antijen düzeyi ölçümü hastalık şiddetini değerlendirmenin yanında tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi ve tedavi takibinde de kullanılabilecek bir markerdir.

Bizim çalışmamızda elde edilen ve literatüre katkı sağlayabilecek önemli sonuç ise şudur; HbsAg, AST, ALT, HbsAg ve M30 antijen düzeylerindeki düşüş, potent oral antiviral olan tenofovir alan hasta grubunda, lamivudin alan hasta grubuna göre daha belirgindi. Bu iki grup arasında HBVDNA düşüş oranında anlamlı fark saptanmamasına rağmen, tenofovir grubunda, lamivudin grubuna göre cccDNA'nın indirek göstergesi olan HbsAg titresinde ve apoptozisin göstergesi olan M30 antijen titresinde belirgin düşüş olması oldukça anlamlı bir bulguydu. Maalesef günümüzde ülkemizde dahil, pek çok ülkede sosyoekonomik sebeplerden dolayı düşük direnç bariyeri olan oral antivirallerin kullanımına devam edilmektedir. Bu bilgi ışığında, günümüzde hala direnç bariyeri düşük olan oral antivirallerin ALT ve HBVDNA düzeyiyle takip edilerek kullanılmaya devam edilmesinin yanlış olduğunu düşünüyoruz.

Çıkar ilişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

1. Lavanchy D. Hepatitis B epidemiology, disease burden treatment and emerging prevention and control measures. *J Viralhepat* 2004;11:97-107. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2893.2003.00487.x>
2. Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology* 2009;49:13-21. <https://doi.org/10.1002/hep.22881>
3. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009;50:227-242. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.10.001>
4. Cornberg M, Honer Zu Siederdisen C. HbsAg seroclearance with NUCs: rare but important. *Gut* 2014;63:1208-1209. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306221>
5. Brunetto MR. A new role for an old marker, HbsAg. *J Hepatol* 2010;52:475-477. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.12.020>
6. Sung JJ, Wong ML, Bowden S, et al. Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. *Gastroenterology* 2005;128:1890-1897. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.03.009>
7. Chan HL, Wong VW, Tse AM, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1462-1468. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2007.09.005>
8. Werle Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004;126:1750-1758. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.03.018>
9. Manesis EK, Schina M, Le Gal F, et al. Quantitative analysis of hepatitis D virus RNA and hepatitis B surface antigen serum levels in chronic delta hepatitis improves treatment monitoring. *Antivir Ther* 2007;12:381-388.
10. Manesis EK, Hadziyannis ES, Angelopoulou OP, Hadziyannis SJ. Prediction of treatment-related HbsAg loss in HBeAg negative chronic hepatitis B: a clue from serum HbsAg levels. *Antivir Ther* 2007;12:73-82.
11. Fischer R, Baumert T, Blum HE. Hepatitis C virus infection and apoptosis. *World J Gastroenterol* 2007;13:4865-4872. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i36.4865>
12. Lapiere P, Beland K, Alvarez F. Pathogenesis of autoimmune hepatitis: from break of tolerance to immune-mediated hepatocyte apoptosis. *Transl Res* 2007;149:107-113. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2006.11.010>
13. Day CP. Apoptosis in alcoholic hepatitis: a novel therapeutic target. *J Hepatol* 2001;34:330-333. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(00\)00110-0](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(00)00110-0)

14. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virüs infection. *Hepatology* 2009;49:45-55. <https://doi.org/10.1002/hep.22898>
15. Kronenberger B, Zeuzem S, Sarrazin C, et al. Dynamics of apoptotic activity during antiviral treatment of patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2007;12:779-787.
16. Kronenberger B, Wagner M, Hermann E, et al. Apoptotic cytokeratin 18 neoepitopes in serum of patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2005;12:307-314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2005.00594.x>
17. Bantel H, Luger A, Heidemann J, et al. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury. *Hepatology* 2004;40:1078-1087. <https://doi.org/10.1002/hep.20411>
18. Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Tsochatzis E, et al. Serum apoptotic caspase activity as a marker of severity in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection. *Gut* 2008;57:500-506. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.123943>
19. Lok ASF, McMahon BJ. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Chronic Hepatitis B: Update 2009 *Hepatology* 2009;50:661-662. <https://doi.org/10.1002/hep.23190>
20. Feldstein AE. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study. *Hepatology* 2009;50:1072-1078. <https://doi.org/10.1002/hep.23050>
21. Rutherford, A, King LY, Hyman LS, et al. Development of an accurate index for predicting outcomes of patients with acute liver failure. *Gastroenterology* 2012;143:1237-1243. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.07.113>
22. Jazwinski AB, Thompson AJ, Clark PJ, et al. Elevated serum CK18 levels in chronic hepatitis C patients are associated with advanced fibrosis but not steatosis. *J Viral Hepat* 2012;19:278-282. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01546.x>
23. Cao Z, Li F, Xiang X, et al. Circulating cell death biomarker: good candidates of prognostic indicator for patients with hepatitis B virus related acute-on chronic liver failure. *Sci Rep* 2015;18:5. <https://doi.org/10.1038/srep14240>
24. Parfieniuk Kowarda A, Lapinski TW, Rogalska Plonska M, et al. Serum cytochrome c and m30-neoepitope of cytokeratin-18 in chronic hepatitis C. *Liver International* 2014;34:544-550. <https://doi.org/10.1111/liv.12297>
25. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012;57:167-185. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>
26. Colombo M. Does chemotherapy prevent HBV-related hepatocellular carcinoma? *Cons Dig Liver Dis* 2010;42:298-301. [https://doi.org/10.1016/S1590-8658\(10\)60520-8](https://doi.org/10.1016/S1590-8658(10)60520-8)
27. Liaw YF. Impact of hepatitis B therapy on the long-term outcome of liver disease. *Liver Int* 2011;31:117-121. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02388.x>
28. Takkenberg RB, Zaaijer HL, Molenkamp R, et al. Validation of a sensitive and specific real-time PCR for detection and quantitation of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in plasma of chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 2009;81:988-995. <https://doi.org/10.1002/jmv.21477>
29. Suh SJ, Bae SI, Kim JH, Kang K, Yeon JE, Byun KS. Clinical implications of the titer of serum hepatitis B surface antigen during the natural history of hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2014;86:117-123. <https://doi.org/10.1002/jmv.23767>
30. Park H, Lee JM, Seo JH, et al. Predictive value of HbsAg quantification for determining the clinical course of genotype C HBeAg-negative carriers. *Liver Int* 2012;32:796-802. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02693.x>
31. Farnika H, Langea CM, Hofmann WP, et al. Nucleos(t)ide analogue treatment reduces apoptotic activity in patients with chronic hepatitis B. *Journal of Clinical Virology* 2011;52:204-209. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.08.009>
32. Jochum, C, Gieseler RK, Gawlista I, et al. Hepatitis B-associated acute liver failure: immediate treatment with entecavir inhibits hepatitis B virüs replication and potentially its sequelae. *Digestion* 2009;80:235-240. <https://doi.org/10.1159/000236009>
33. Giannousis IP, Manolakopoulos SG, Hadziyannis E, Georgiou A, Papatheodoridis GV. Changes of serum levels of keratin-18 fragments in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients under oral antiviral therapy. *Antiviral Therapy* 2011;16:505-514. <https://doi.org/10.3851/IMP1775>

Etik kurul onayı: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Komitesi tarafından 03/09/2015 tarih ve 15 sayı ile onaylanmıştır.

Yazarların makaleye olan katkıları

Z.D.Ö. ve M.Ç. çalışmanın ana fikrini ve hipotezini kurgulamış/kurgulamışlardır. Z.D.Ö. teoriyi geliştirmiş ve gereç ve yöntem bölümünü düzenlemiş/düzenlemişlerdir. Sonuçlar kısmındaki verilerin değerlendirmesini İ.H.A. ve Y.G. yapmış/yapmışlardır. Makalenin tartışma bölümü Z.D.Ö. tarafından yazılmış, H.Y. ve M.Y. gözden geçirip gerekli düzeltmeleri yapmış ve onaylamıştır. Ayrıca tüm yazarlar çalışmanın tamamını tartışmış ve son halini onaylamıştır.